J 309

健常者の喫煙の血清サイトカイン濃度に対する影響

○角田正史, 角田文男 (岩手医大衛生公衆衛生) 小山富子 (岩手県予防医学協会)

David J. Tollerud (Allegheny University of the Health Sciences)

【目的】近年、免疫学においてサイトカイン研究の発達が目覚しく、極めて高感度な測定法も開発されて健常集団での血清レベルの測定が可能となった。演者らは以前に Chemiluminescence ELISA (CL-ELISA) を用い、米国人女性を対象に血清サイトカインに影響を及ぼす要因について検討した。その結果、喫煙による血清サイトカインレベルの低下が示唆された。しかし喫煙群の数が比較的に少ない等の問題があった。そこで、本報では喫煙率が高い健康成人男性を対象に喫煙の血清サイトカイン濃度に及ぼす影響を検討し、また飲酒や血液生化学所見との関連も検討した。

【対象及び方法】対象は、岩手県農村部の健康成人男性で、1995年6月から7月の間に老人保健法による基本健康診査受診者のうち、明らかな疾患のない者から選定した。対象年齢は40～60歳とし、総数242名であった。対象者には、現在の喫煙の有無、過去の喫煙の有無、喫煙本数等を質問して喫煙状況を把握、Brinkman Index を計算した。結果は喫煙群116名(喫煙本数20本以下:81名,21本以上:35名)、非喫煙群126名となった。また飲酒状況を質問し、1日のアルコール消費量を換算した。さらに血液生化学的検査として GOT、GPT、 γ -GTP、アルカリフォスファターゼ、総コレステロール、中性脂肪、CRP、血液所見として白血球数、赤血球数、Hb、Ht 値も測定した。サイトカインの測定は CL-ELISA を用いて行なった。測定サイトカインはインターロイキン(IL)4、5、6、10、インターフェロン- γ (IFN- γ)、顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)の6種であった。それぞれのサイトカインについて、抗サイトカイン capture monoclonal antibody (mAb) を ELISA 用プレートに結合させ、そこに 1.0% BSA/PBS-Tween で4倍希釈

したサンプルをトリプリケイトで加えた。また、検量線の作成のため、各プレート毎にリコンビナントのサイトカインから調整した標準溶液も加えた。生成した抗原抗体複合物に、ビオチン化抗サイトカイン detecting mAb を結合させ、それに avidin に結合したアルカリフォスファターゼをビオチン avidin の結合で付加し、生成物に基質の Lumi-Phos 530 を加え発光度をルミノメーターで測定した。検出限界は IL-4,5,6: 0.15pg/ml, IL-10: 0.6pg/ml, IFN- γ : 0.3 pg/ml, GM-CSF: 2.5 pg/ml であった。検出限界以下のものには検出限界値を当て、得られたサイトカインの値を対数変換し各群間の平均値の差の検定、相関性の検討を行なった。

【結果及び考察】その結果、非喫煙群は喫煙群より IL-5 の平均値が有意に高かった。(Fig.1)。他のサイトカインについては有意差を認めなかった。喫煙群を喫煙本数20本以下と21本以上に分けた検討では、21本以上の群が低い平均値を示した。また IL-5 は Brinkman Index と弱い負の相関を示した ($r = -0.140, P < 0.05$)。以上より、喫煙が血清 IL-5 レベルに対し抑制的に働く事が示唆された。過去の喫煙の有無による影響は見られなかった。サイトカインは相互に有意な相関性を示し(Tab.1)生体内のサイトカインネットワークの反映が考えられた。飲酒と血清サイトカイン濃度との関連は見られず、血液データとの関連では、Tab.2に有意な相関を示した組み合わせをまとめたが、弱い相関が見られるのみだった。これは対象者を健常者に限ったためと考えられた。血清サイトカインレベルの検討には喫煙についての考慮が必要であろう。

Figure 1. Serum IL-5 Level among non-smokers and smokers

Table 1 The correlation coefficients between cytokines

cytokine	IL-4	IL-5	IL-6	IL-10	IFN- γ	GM-CSF
IL-5	0.584...					
IL-6	0.216...	0.273...				
IL-10	0.450...	0.545...	0.447...			
IFN- γ	0.325...	0.455...	0.448...	0.392...		
GM-CSF	0.608...	0.453...	0.276...	0.611...	0.440...	

...p<0.01, ...p<0.001

Table 2 The correlation coefficients between cytokines and laboratory data

cytokine, laboratory data	correlation coefficient	p value
IL-6, GOT	-0.173	0.030
IL-6, GPT	-0.150	0.025
IL-6, γ GPT	-0.160	0.016
IL-10, red blood cell count	0.177	0.006